

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN**(11)Publication number : **59-162889**(43)Date of publication of application : **13.09.1984**

(51)Int.Cl.

C12P 1/00  
// A61K 35/12  
(C12P 1/00  
C12R 1/91 )

(21)Application number : **58-035850**

(71)Applicant : **KOKEN KK**  
**IJIMA KUNIHITO**  
**TAJIMA TOMOYUKI**  
**NAGANUSHI YUICHIROU**

(22)Date of filing : **07.03.1983**(72)Inventor : **TAJIMA TOMOYUKI****(54) PRODUCTION OF AGENT FOR SUPPRESSING PROLIFERATION OF MALIGNANT TUMOR CELL OF ANIMAL****(57)Abstract:**

PURPOSE: To produce the titled agent, by culturing the malignant tumor cell of an animal within a specific temperature range, and extracting the culture product after removing the cell from the medium.

CONSTITUTION: For example, the established cell HRC originated from human kidney cell carcinoma is cultured in a medium added with 10% serum of bovine neonate, at 30W37°C for about 1 week. After the cultivation, the cells are removed by molecular sieve, and the product is extracted to obtain an agent for suppressing the proliferation of malignant tumor.

**LEGAL STATUS**

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

**BEST AVAILABLE COPY**

## ⑫ 特許公報(B2)

平3-73526

⑮ Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公告 平成3年(1991)11月22日

A 61 K 35/12

ADU

8615-4C

発明の数 1 (全3頁)

⑬ 発明の名称 人の悪性腫瘍細胞の増殖抑制剤の製造方法

⑯ 特 願 昭58-35850

⑰ 公 開 昭59-162889

⑱ 出 願 昭58(1983)3月7日

⑲ 昭59(1984)9月13日

⑲ 発 明 者 田 島 知 行 千葉県市川市八幡6丁目5番15号

⑲ 出 願 人 興 研 株 式 会 社 東京都千代田区四番町7番地

⑲ 出 願 人 飯 島 邦 仁 神奈川県川崎市多摩区東生田1-15-16 タマキナ荘3号

⑲ 出 願 人 田 島 知 行 千葉県市川市八幡6丁目5番15号

⑲ 出 願 人 長 主 陽 一 朗 神奈川県大和市中央3丁目9番4号

⑲ 代 理 人 弁 理 士 竹 本 松 司 外1名

審 査 官 内 藤 伸 一

⑲ 参 考 文 献 特開 昭59-33223 (JP, A) 特開 昭58-138383 (JP, A)

1

2

## ⑲ 特許請求の範囲

1 ヒト腎細胞癌由来樹立株細胞を $35^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ の温度で一週間ベイサルメディアムイーグル(Basal Medium Eagle)を培地として培養し、培地から前記悪性腫瘍細胞を除いて抽出すること  
特徴とする人の悪性腫瘍細胞増殖抑制剤の製造方法。

## 発明の詳細な説明

この発明は、人の悪性腫瘍細胞の増殖抑制剤の製造方法に関する。

本発明の人の悪性腫瘍細胞増殖抑制剤の製造方法はヒト腎細胞癌由来樹立株細胞を $35^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ の温度で一週間ベイサルメディアムイーグル(Basal Medium Eagle)を培地として培養し、培地から前記悪性腫瘍細胞を除いて抽出すること  
を特徴とするものである。

人の悪性腫瘍細胞を培養後、同腫瘍細胞を除いて抽出して得られた物質は、正常細胞に対しても多少の増殖抑制が認められるが、悪性腫瘍細胞に対して著しい増殖抑制力があり、抽出用培地において $30^{\circ}\text{C}$ 以上 $37^{\circ}\text{C}$ 以下で培養すれば、他の培養温度で培養した時と比べ、より著しい増殖抑制力があり、繰返し投与すれば、悪性腫瘍細胞の生存数を減少させることも可能である。また、この製造

方法により得られた悪性腫瘍細胞増殖抑制剤は、従来の抗腫瘍剤のような副作用がほとんどないと考えられる。

次に、この発明の実施例について述べる。

## 1 実験材料とした細胞

ヒト腎細胞癌由来株化細胞HRC。

## 2 抽出培養用培地

10%新生児牛血清を添加したBasal Medium Eagle(BME) diploid用。

## 10 3 培養方法

150 $\text{cm}^2$ の底面積を持つ培養槽に、50 $\text{mL}$ のBMEと共に $2 \times 10^7$ 個以上のヒト腎細胞由来株化細胞HRCを加える。実験群は $42^{\circ}\text{C}$ 、 $35^{\circ}\text{C}$ 、室温( $25^{\circ}\text{C}$ )放置の3群を作製し、対称群として $37^{\circ}\text{C}$ の培養群を作製し、これらの温度管理下で一週間培養する。その後、これらの培地を分子量10000, 1000, 500の分子篩にかけ、濾過液を採取する。

次に、この発明の効果を確認するための実験について述べる。

## 1 悪性腫瘍細胞増殖抑制剤の検定法。

15 $\text{mm}$ 径のプラスチックシャーレにヒト腎細胞由来株化細胞HRC $10^4$ 個を植込み、通常の如く、10%牛血清添加BMEにて24時間培養する。

次に前記実施例の方法で製造された物質を含む各群の培地に、新たに最初のBMEと同量のアミノ酸類、ビタミン類、グルコースを添加し、先の24時間培養した培地と、これらの抽出物を含む培地を培地交換し、6日間5%CO<sub>2</sub>、100%湿度の中、37℃で培養を行い、ヒト腎細胞由来株化細胞HRCの増殖を調べた。

### 5 実験結果

悪性腫瘍細胞を35℃で培養した培地の抽出物を含む培地の群は、37℃で培養した培地の抽出物の培地の群と比べ、悪性腫瘍細胞の増殖が著しく阻止された。

表1は、悪性腫瘍細胞の増殖阻止率を表わしたもので、加えたヒト腎細胞由来株化細胞HRCに対してその生存数を百分比(%)にして算出し、その値を100%より引いた後、つまり阻止された割合を、37℃で培養した対称群の場合と比較したもので、対称群においても増殖は阻止されているが、35℃で培養したものは顕著に増殖が阻止されている。

表2は、表1で表わした実験結果の対称群である37℃を1とした時の他の温度管理下で培養したものの増殖阻止の割合を表わしたもので、図は、表2の結果をグラフに表わしたものである。

表 1

実験	ロット番号	培養温度			
		室温25℃	35℃	37℃	42℃
1	#62-1			76%	46%
2	62-2			76%	26%
3	63		67%	43%	
4	65	21%	73%	45%	
5	66	25%	66%	54%	

表 2

実験	ロット番号	培養温度			
		室温25℃	35℃	37℃	42℃
1	#62-1			1	0.6
2	62-2			1	0.3
3	63		1.6	1	
4	65	0.5	1.6	1	
5	66	0.5	1.2	1	

### 図面の簡単な説明

図は、対称群を1とした時の本発明の実験結果のグラフである。

